

①2

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 15.03.90.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : 20.09.91 Bulletin 91/38.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : Société dite : SANOFI — FR.

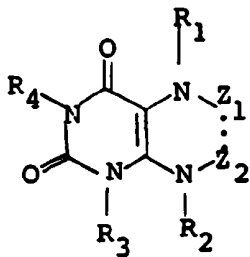
⑦2 Inventeur(s) : Fraise Laurent, Le Fur Gérard et
Verlhac Jean-Baptiste.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : Cabinet Lavoix.

⑤4 Dérivés de pyrimidinedione-2,4 et médicaments les contenant.

⑤7 Ces dérivés répondent à la formule



dans laquelle l'un des symboles R₁, R₂, R₃ ou R₄ représente un groupe alkyle en C₆ à C₂₀ et les autres représentent chacun H ou un groupe alkyle en C₁ à C₃ et Z₁ et Z₂ représentent chacun H ou représentent ensemble le groupe carbonyle ou thiocarbonyle, et leurs sels d'addition avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

Médicaments.

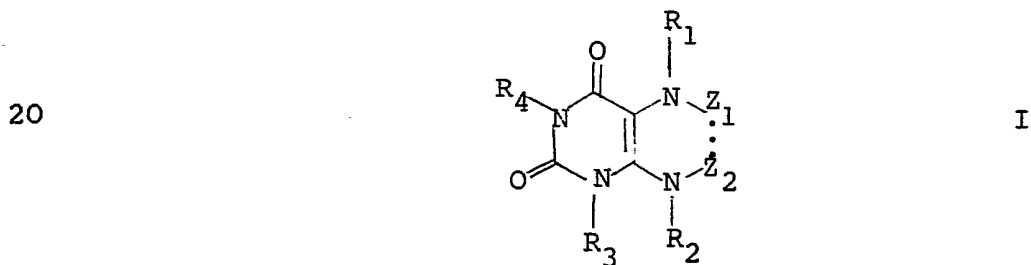


La présente invention concerne des dérivés de pyrimidinedione-2,4 et les médicaments qui les contiennent.

5 Ces composés notamment présentent une activité anti-radicalaire et sont des inhibiteurs de la peroxydation des lipides des membranes biologiques.

On sait que l'acide urique et certains de ses dérivés N-méthylés piègent les radicaux libres in vitro et il a été envisagé dans Pro. Natl. Acad. Sci. USA 78 6858 (1981) que l'acide urique pouvait jouer, chez l'homme, un rôle protecteur contre la toxicité des radicaux oxygénés. Mais on a montré que l'acide urique n'est actif que sur certaines de ces espèces réactives puisqu'il n'inhibe pas la peroxydation des lipides membranaires, contrairement aux composés de la présente invention.

Ceux-ci répondent à la formule



25 dans laquelle l'un des symboles R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 représente un groupe alkyle en C_6 à C_{20} tandis que les autres représentent chacun H ou un groupe alkyle en C_1 à C_3 et Z_1 et Z_2 représentent chacun H ou représentent ensemble le groupe carbonyle ou thiocarbonyle, étant entendu que lorsque Z_1 et Z_2 représentent le groupe carbonyle et R_4 représente n-hexyle, R_1 et R_3 ne peuvent représenter simultanément CH_3 et que l'un des R_3 ou R_4 est différent de H lorsque R_1 représente n-dodécyle, ainsi que les sels d'addition de ces composés avec les acides minéraux et organiques pharmaceutiquement acceptables.

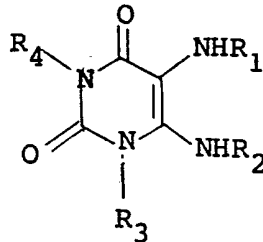
30

2

Les composés de formule I peuvent être préparés de la manière suivante.

Les composés de formule II

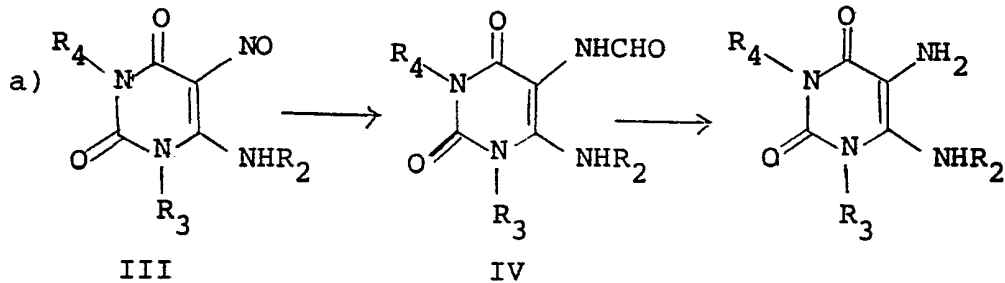
5



II

10 dans laquelle R₁ représente H et R₂, R₃ et R₄ sont comme dans la formule I peuvent être préparés à partir des dérivés de formule III, soit par l'intermédiaire du formamide (IV) selon le schéma réactionnel (a)

15



20

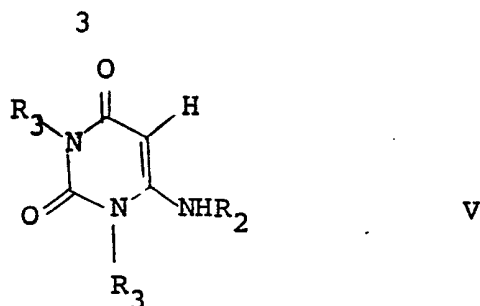
soit directement par hydrogénation catalytique ou par action d'un dithionite alcalin en milieu aqueux ou dans le formamide.

25

Le formamide (IV) est obtenu, par exemple, par action du zinc ou de dithionite alcalin et d'acide formique.

30

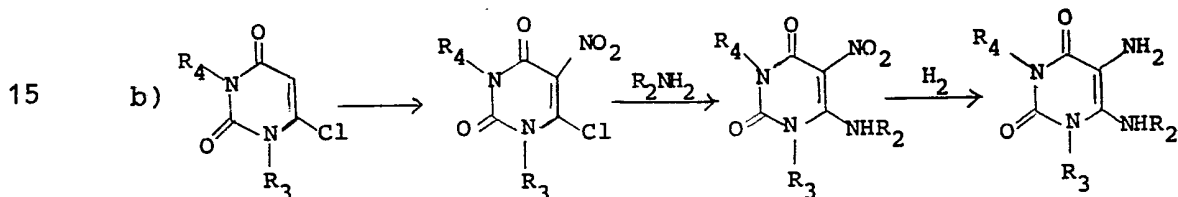
Certains dérivés de formule III sont connus; les autres pourront être préparés, de façon connue en soi, par action d'un nitrite d'alkyle, comme le nitrite d'isoamyle, ou d'un nitrite alcalin sur les pyrimidinediones de formule V



5

dans laquelle R_2 , R_3 et R_4 sont comme dans la formule I.

Les composés de formule II dans lesquels R_1 représente H peuvent aussi être préparés à partir de chloro-6 pyrimidinedione-2,4 selon le schéma réactionnel (b)



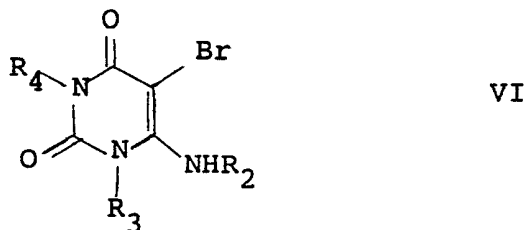
15

en appliquant des méthodes classiques, comme celle décrite dans Liebigs Ann. Chem. 677 p. 113 (1964).

20

Les composés de formule II dans lesquels R_1 est un groupe alkyle sont préparés par action de l'amine R_1NH_2 sur le dérivé bromé de formule VI

25



30

dans laquelle R_2 , R_3 et R_4 sont comme dans la formule I. Le dérivé (VI) est obtenu par action du brome dans l'acide acétique ou de la N-bromo succinimide dans un mélange d'acide et d'anhydride acétique sur le composé (V), comme décrit dans Liebigs Ann. Chem. p. 1847-54

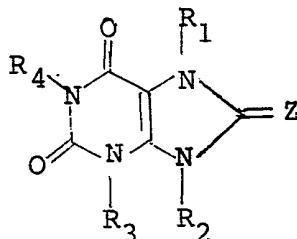
4

(1979); lorsque R_3 représente H il est préférable, avant d'effectuer la bromation, de protéger l'azote par exemple par un groupe benzyle, qui sera éliminé par hydrogénation catalytique après la réaction avec R_1NH_2 .

5

Les composés de formule VII

10



dans laquelle R_1 à R_4 sont comme dans la formule I et Z est O ou S, peuvent être préparés par action de l'urée ou de la thiourée sur les diaminopyrimidinediones de formule II en appliquant la méthode décrite dans Liebigs Ann. Chem. p. 2030 (1974) pour des produits dans lesquels $R_1, R_2, R_3, R_4 = H$ ou CH_3 .

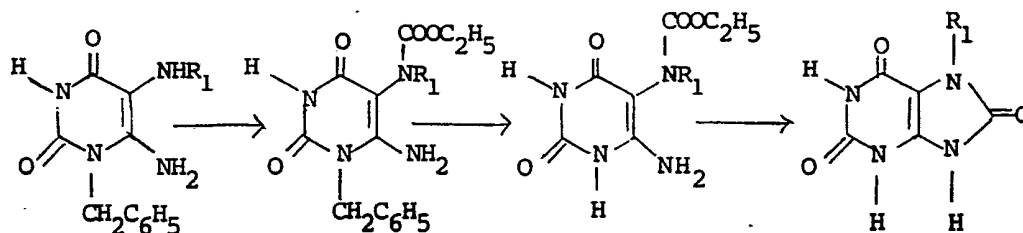
15

Lorsque R_1 représente un groupe alkyle, on prépare de préférence le composé de formule VII en appliquant un procédé décrit dans Liebigs Ann. Chem. p. 1847-54 (1979) pour un composé II dans lequel $R_1 = CH_3$. Pour le composé dans lequel $R_2 = R_3 = R_4 = H$, il est nécessaire de bloquer l'azote portant R_3 et le schéma réactionnel est le suivant :

20

25

30

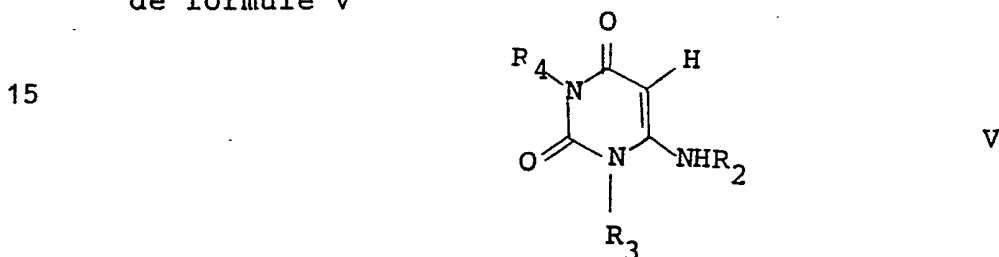


Le carbamate est préparé de façon classique par action d'un chloroformiate d'alkyle sur le composé

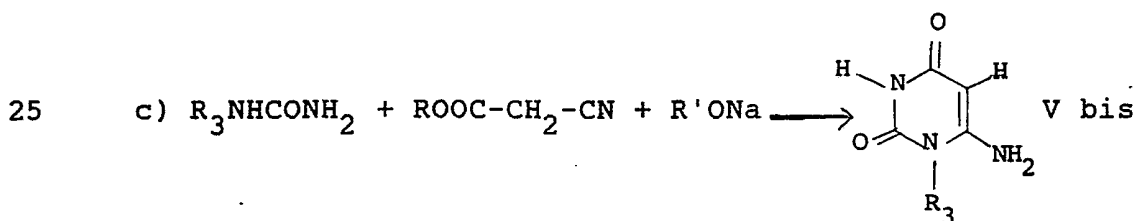
5

(II) dans lequel $R_2 = H$, $R_3 = CH_2C_6H_5$ et $R_4 = H$, en présence d'une base, tandis que la cyclisation est effectuée par chauffage prolongé en milieu basique dans un solvant polaire, tel qu'un alcool, ou sans solvant en tube scellé en présence d'alcoolate de sodium, comme décrit dans Liebigs Ann. Chem. p. 1847 (1979).

Les amino-6 pyrimidinediones de départ (V), peuvent être préparées par des procédés dont les principes sont connus, qui ont été notamment décrits pour des composés dans lesquels R_2 , R_3 ou R_4 , identiques ou différents, représentent H ou CH_3 . Ainsi les composés de formule V



dans laquelle R_3 est différent de H et $R_2 = R_4 = H$, sont préparés par le procédé décrit dans J. Am. Chem. Soc. 63 2567 (1941), dans un alcool selon le schéma réactionnel (c) :



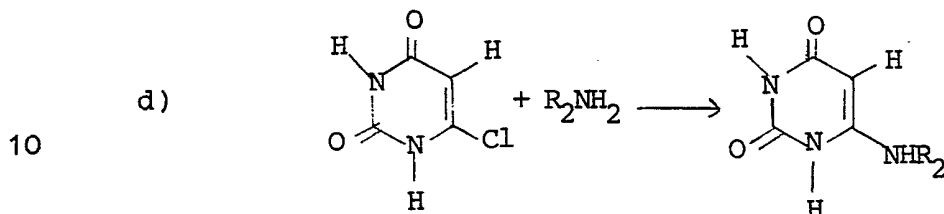
dans lequel R, R' représentent un groupe alkyle en C_1 à C_4 .

Pour obtenir les composés (V) dans lesquels R_3 et R_4 sont différents de H, on traite le composé de formule V bis, en milieu basique, par un composé R_4X dans lequel X représente un atome d'halogène ou lors-

6

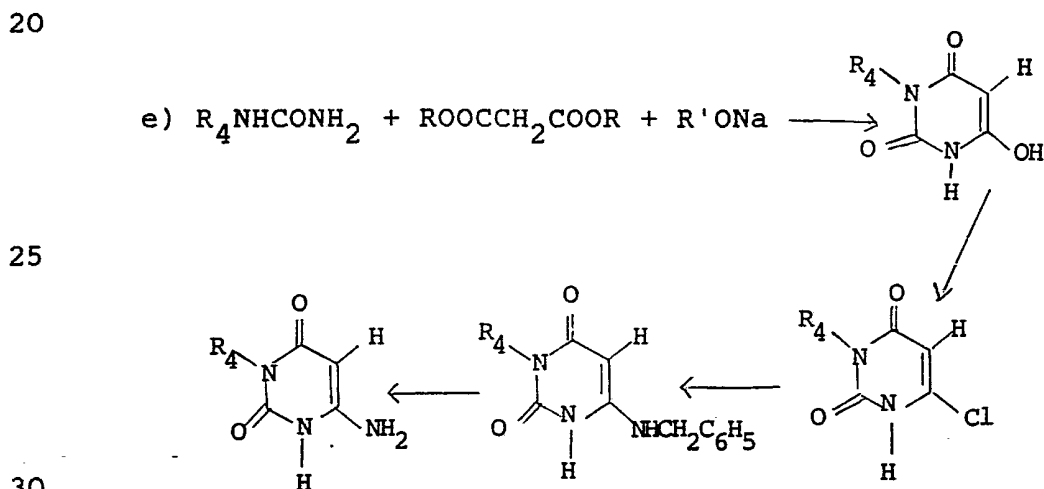
que R_4 représente CH_3 de préférence par $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$.

Les composés de formule V dans laquelle R_3 et R_4 représentent H sont préparés par action sur la chloro-6 pyrimidinedione, composé connu, de R_2NH_2 en milieu acide selon le schéma réactionnel (d) :



comme décrit, par exemple, dans J. Med. Chem. 20 p. 1186 (1977) ou par fusion du composé (V) dans lequel $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$ avec R_2NH_2 en présence de R_2NH_2 , HCl .

15 Les composés de formule V dans laquelle R_2 et R_3 représentent H, sont préparés par le procédé décrit dans Liebigs Ann. Chem. 631 p. 168 (1960) selon le schéma réactionnel (e)



dans lequel R et R' représentent chacun un groupe alkyle en C_1 à C_4 , en appliquant le mode opératoire décrit dans Liebigs Ann. Chem. 612 p. 158 (1958).

Les sels des composés de formule I qui portent des fonctions amines sont préparés par action d'au moins un équivalent de l'acide sur l'amine en solution; ils sont isolés par précipitation ou par évaporation du solvant et purifiés par recristallisation si'il y a lieu.

Les compositions pharmaceutiques et les médicaments ayant pour principe actif au moins l'un des composés de formule I, quelque soit R_1 , R_3 et R_4 lorsque Z_1 et Z_2 représentent ensemble C=O, ou l'un de ses sels avec un acide pharmaceutiquement acceptable, sont un autre objet de l'invention; on préfère particulièrement les composés dans lesquels l'un des symboles R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 représente un groupe alkyle en C_{12} à C_{20} .

La présence de radicaux libres en quantité excessive a été mise en évidence dans de nombreux états pathologiques et il est maintenant pratiquement démontré que les destructions tissulaires observées dans l'arthrite rhumatoïde, les maladies auto-immunes, les surcharges en fer et les suites d'ischémies cérébrales et cardiaques dépendent largement de la formation de radicaux libres. Aussi on peut envisager d'administrer à l'homme des composés qui inhibent la formation de ces espèces très réactives, à titre préventif ou curatif dans le traitement des maladies précédemment citées comme vraisemblablement dans les maladies de l'âge mûr pour lesquelles des radicaux libres ont été associés aux phénomènes dégénératifs observés.

On sait que parmi les radicaux libres, ceux dérivés de l'oxygène, et particulièrement le radical hydroxyle OH', ont un rôle important; s'il est encore actuellement impossible de mesurer directement in vivo

la concentration de ces radicaux, on sait l'estimer en étudiant la neutralisation de divers radicaux libres in vitro, et surtout la peroxydation des lipides membranaires, dont la conséquence est la formation d'aldéhydes cytotoxiques et la destruction des membranes cellulaires entraînant une augmentation de leur perméabilité.

L'action anti-radicalaire d'un produit XH est couramment déterminée, in vitro, par la mesure de la neutralisation du radical diphényl-1,1, picryl-2 hydrazyle (DPPH'), stable à 20°C, par le produit XH dans la réaction $DPPH' + XH \longrightarrow DPPH_2 + X'$

La disparition du radical DPPH' est étudiée par spectrophotométrie à 517 nm, longueur d'onde à laquelle le radical absorbe fortement le rayonnement contrairement à la molécule d'hydrazine DPPH₂. Cette méthode est notamment décrite dans Free Radical in Biology & Medicine 3 p. 251-257 (1987) pour l'acide urique et ses dérivés N-méthylés.

Les composés de l'invention sont, dans cet essai, actifs à des doses comparables à celles de l'acide urique.

L'inhibition de la peroxydation lipidique due aux radicaux libres oxygénés, particulièrement importante en présence de fer, a été déterminée, in vitro, par la mesure de la quantité d'aldéhyde malonique formée dans des suspensions de mitochondries, mises en présence d'un générateur d'ions superoxydes comme l'acide dihydroxyfumarique.

L'acide urique est inactif dans cet essai, alors que les composés selon l'invention ont une activité voisine de celle des amino-2 stéroïdes décrits dans Drugs of the future vol. 14 (2), 143-152, (1989) et notamment du 21-[4-(3,6-bis(diéthylamino)-2-pyri-

dinyl)-1 piperazinyl]-16 α -méthylpregna-1,4,9(11)-triene-3,20-dione (composé A).

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention comprenant comme principe actif au moins l'un des composés de formule I ou l'un de ses sels avec un acide pharmaceutiquement acceptable seront administrés pour le traitement préventif ou curatif des phénomènes dégénératifs liés à la présence de radicaux libres, par voie orale, parentérale ou transmuqueuse. Les doses unitaires et journalières dépendront du composé, de la nature et de la gravité de la maladie, du poids et de l'état du sujet ainsi que de la voie d'administration; en général, par voie orale la dose unitaire sera chez l'adulte de 1 mg à 500 mg, tandis que par voie intraveineuse, elle sera de 0,1 à 25 mg.

On décrit dans ce qui suit des exemples de composés de l'invention, leur procédé de préparation et les résultats obtenus lors de l'étude de leurs activités anti-radicalaire et anti-lipoperoxydante ainsi que celles du composé de référence A précédemment cité.

Les résultats des analyses centésimales des composés isolés sont compatibles avec leurs formules brutes; les points de fusion indiqués sont instantanés. Les spectres RMN¹H ont été tracés en solution dans le diméthylsulfoxyde deutéré, avec comme étalon interne le tétraméthylsilane.

On décrit d'abord des exemples de préparation des amino-6 pyrimidines dione-2,4 de formule V.

30 A) Alkylamino-6 pyrimidinedione-2,4

i) formule V : R₂ = C₁₂H₂₅, R₃ = H, R₄ = H

On maintient à 160°C durant 3 heures un mélange de 7,5 g d' amino-6 pyrimidinedione-2,4, de 12 g de dodécylamine et 12 g de chlorhydrate de dodécyla-

mine. Le milieu réactionnel est alors ramené à température ambiante avant l'introduction de 100 ml d'éthanol. Le solide est isolé par filtration puis mis en suspension pendant quelques minutes dans 100 ml
 5 d'une solution aqueuse de NaOH 2N. Le solide restant est isolé et recristallisé dans l'acide acétique. On obtient ainsi 7 g du produit attendu fondant à plus de 250°C.

10 RMN(300 MHz) δ : 0,85(t,3H); 1,25(m,18H); 1,50(m,2H); 2,98(q,2H); 4,37(s,1H); 5,98(t,1H); 9,78(s,1H); 10,07(s,1H).

ii) On prépare de la même façon à partir d'hexadécylamine le dérivé de formule V dans laquelle
 15 $R_2 = C_{16}H_{33}$, $R_3 = H$, $R_4 = H$ qui fond à plus de 150°C.

B) Alkyl-1 amino-6 pyrimidinedione-2,4

Formule V : $R_3 = C_{12}H_{25}$, $R_2 = H$, $R_4 = H$

20 On introduit dans une solution d'éthylate de sodium dans 100 ml d'éthanol préparée avec 4 g de sodium, 17,6 g de cyanoacétate d'éthyle et 35 g de dodécylurée. Le milieu est maintenu à sa température de reflux durant 7 heures, puis on introduit, après retour à température ambiante, une solution aqueuse concentrée de HCl jusqu'à pH acide et ensuite 200 ml
 25 d'eau. Le précipité formé est isolé par filtration puis recristallisé dans l'éthanol. On isole ainsi 29g du produit cherché qui fond à plus de 250°C.

30 RMN(300 MHz) δ : 0,87(t,3H); 1,26(m,18H); 1,52(m,2H); 3,73(t,2H); 4,58(s,1H); 6,69(m,2H).

C) Alkyl-1 alkyl-3 amino-6 pyrimidinedione-2,4

Formule V : $R_3 = C_{12}H_{25}$, $R_2 = H$, $R_4 = CH_3$.

On met en suspension dans 10 ml d'une solution aqueuse de NaOH et 10 ml d'éthanol, 2,95 g de

l' amino-6 dodécyl-1 pyrimidinedione-2,4 préparée en B et à 60°C, on introduit 1,3 g de $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$. Le chauff-age est maintenu jusqu'à ce que le pH du milieu soit pratiquement neutre; on introduit alors une solution aqueuse de NaOH N jusqu'à pH basique et, après refroidissement, on extrait la solution par du chloroforme. La phase organique, lavée à l'eau et séchée est amenée à siccité. On obtient ainsi 2,35 g du produit attendu qui fond à 74°C.

D) Alkyl-3 amino-6 pyrimidinedione-2,4

Formule V : $\text{R}_2 = \text{H}$, $\text{R}_3 = \text{H}$, $\text{R}_4 = \text{C}_{12}\text{H}_{25}$.

a) On introduit dans 150 ml d'une solution d'éthylate de sodium préparée avec 3,5 g de sodium, 35 g de dodécylurée et 24,3 g de malonate d'éthyle; le mélange est maintenu 8 heures à sa température de reflux, avant l'addition, à température ambiante d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique concentré jus-qu'à pH acide. Le précipité est alors isolé par filtration, lavé à l'eau puis recristallisé dans l'éthanol. On obtient ainsi 30 g de dodécyl-1 pyrimidinetrione-2,4,6. F = 129-130°C.

b) On met en suspension 30 g du produit obtenu selon a) dans 13,5 ml d'eau et on additionne goutte à goutte 102 ml de POCl_3 . Le mélange est ensuite maintenu à sa température de reflux pendant une heure, puis l'excès de POCl_3 distillé sous pression réduite. Le résidu est versé sur de la glace pilée et le précipité formé est isolé. Après lavage à l'eau et recristallisation dans un mélange eau-méthanol, on obtient 20,5 g de chloro-6 dodécyl-3 pyrimidinedione-2,4 qui fond à 156-157°C.

c) On maintient à 170°C durant 1 heure un mélange de 30 g du dérivé chloré obtenu selon b) et

150g de benzylamine. Après avoir ramené le milieu à température ambiante, on y introduit 100 ml d'eau et isole le précipité apparu. Après lavage de celui-ci au méthanol et à l'éther éthylique, on récupère 25,13 g
5 de benzylamino-6 dodécyl-3 pyrimidinedione-2,4 qui fond à 191°C.

d) On met en suspension dans 400 ml d'éthanol absolu 25 g du composé obtenu selon c) et 4g de palladium sur charbon à 10%, dans un appareil à hydrogénéner dans lequel on maintient pendant 6 heures une
10 pression d'hydrogène de 3 MPa et une température de 80°C. Le catalyseur est éliminé par filtration de la solution encore chaude avant d'évaporer le solvant sous pression réduite et le solide résiduel est lavé
15 avec de l'éther éthylique. On isole ainsi 17,02 g d'amino-6 dodécyl-3 pyrimidinedione-2,4 qui fond à 242°C.

Dans ce qui suit, on décrit la préparation de composés de formule III.

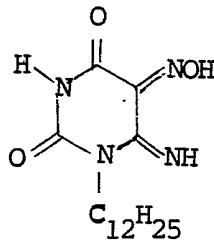
20

E) Amino-6 dodécyl-1 nitroso-5 pyrimidinedione-2,4

(Formule III : $R_2 = H$; $R_3 = C_{12}H_{25}$; $R_4 = H$).

On introduit goutte à goutte 5 ml de nitrite d'isoamyle dans 120 ml d'éthanol dans lesquels 5 g
25 d'amino-6 dodécyl-1 pyrimidinedione-2,4 sont en suspension, puis 2 gouttes d'une solution aqueuse concentrée de HCl. Après 3 heures d'agitation à température ambiante, les cristaux violets formés sont isolés et recristallisés dans l'éthanol. On obtient
30 ainsi 4,35 g du produit attendu qui fond à 206°C.

Celui-ci peut aussi être représenté par la formule tautomère :



10 En appliquant le mode opératoire décrit en E, on a préparé les composés dont les caractéristiques figurent dans le tableau 1 de formule :

15

	R ₂	R ₃	R ₄	F° C
F	H	C ₁₂ H ₂₅	CH ₃	158
G	C ₁₆ H ₃₃	H	H	168
H	C ₁₂ H ₂₅	H	H	173
I	H	H	C ₁₂ H ₂₅	230

20

EXEMPLE 1

Diamino-5,6 dodécyl-1 méthyl-3 pyrimidinedione-2,4
(formule I : Z₁ = Z₂ = H; R₁ = R₂ = H; R₃ = C₁₂H₂₅; R₄ = CH₃).

25 a) Dans une solution portée à sa température de reflux, de 4,35 g du composé de l'exemple C dans 100 ml d'acide formique, on ajoute par petites portions 4 g de zinc en poudre; après 1 heure de reflux, on filtre à chaud et évapore les solvants du filtrat
30 sous pression réduite. On verse sur le résidu 30 ml de CH₃OH et isole le précipité.

On obtient ainsi 3,85 g d' amino-6 dodécyl-1 formylamino-5 méthyl-3 pyrimidinedione-2,4 qui fond à 215°C.

b) On dissout 3,63 g du composé obtenu en a) dans 100 ml de CH_3OH , dans lequel on introduit de l'acide chlorhydrique gazeux par un léger bullage maintenu durant 15 minutes. La solution est ensuite maintenue 3 heures à sa température de reflux, puis refroidie à 0°C . On filtre alors le précipité pour isoler 3,21 g de monochlorhydrate du produit final qui fond à 195°C .

On peut préparer la diamine en traitant une suspension de son chlorhydrate dans CH_3OH par une solution aqueuse concentrée de NH_4OH .

EXEMPLES 2 à 15

Les composés de formule I dans laquelle $Z_1=Z_2=\text{H}$ dont les caractéristiques figurent dans le tableau 2, sont préparés en appliquant le procédé de l'exemple 1.

Exemple	R_1	R_2	R_3	R_4	$F^\circ\text{C}$ (sel)
2	H	H	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	H	237
3	H	H	H	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	>250 (HCl)
4	H	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}$	H	H	242 (HCl)
5	H	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	H	H	>200 (HCl)
6	H	H	C_6H_{13}	H	>200 (HCl)
7	H	H	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}$	H	>250 (HCl)
8	H	H	C_8H_{17}	H	>200 (HCl)

RMN EX 7 : (500 MHz) δ : 0,84(t, 3H); 1,25(m, 14H); 1,51(m, 2H); 3,81(t, 2H); 7,72(s, 2H); 9,75(s, 3H); 11,10(s, 1H).

EX 8 : (250 MHz) δ : 0,85(t, 3H); 1,25(m, 10H); 1,49(m, 2H); 3,80(t, 2H); 7,81(s, 2H); 9,46(s, 3H); 11,13(s, 1H).

EXEMPLES 9 et 10

Dodécyl-3 méthyl-1 [1H,3H,9H] purinetrione-2,6,8.

(formule I : Z_1 et $Z_2 = \text{CO}$; $R_1 = R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{C}_{12}\text{H}_{25}$; $R_4 = \text{CH}_3$).

5 On maintient à 180°C durant 1 heure un mélange de 800 mg du composé obtenu à l'exemple 1 avec 1 g d'urée. A température ambiante, on verse dans le milieu 20 ml d'eau; le solide est isolé, lavé avec de l'éthanol et recristallisé dans l'acide acétique. On
10 isole ainsi 680 mg du produit recherché fondant à 266°C.

RMN (250MHz) - δ : 0,86(t,3H); 1,24(m,18H);
1,56(m,2H); 3,19(s,3H); 3,77(t,2H); 10,79(s,1H);
11,89(s,1H).

15 En appliquant le même mode opératoire avec la thiourée, on obtient l'octyl-3[1H,3H,9H]purinedione-2,6-thione-8 : F >250°C.

RMN (90MHz) δ : 0,85(t,3H); 1,24(m,12H); 3,87(t,2H);
11,24(s,1H); 12,98(s,1H); 13,47(s,1H).

20

EXEMPLES 11 à 17

Les composés de formule I dans laquelle Z_1 , Z_2 représentent C=O dont les caractéristiques figurent dans le tableau 3, ont été préparés en appliquant le
25 procédé mis en oeuvre à l'exemple 6.

Exemple	R_1	R_2	R_3	R_4	F°C
11	H	H	H	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	>250
12	H	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	H	H	>250
13	H	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}$	H	H	>250
14	H	H	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	H	>250
15	H	H	C_6H_{13}	H	>250
16	H	H	C_8H_{17}	H	>250
17	H	H	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}$	H	>250

dont les RMN figurent dans le tableau 4.

TABLEAU 4

Exemple	fréquence	δ
11	300 MHz	0,86(t,3H) ; 1,25(m,18H) ; 1,52(m,2H) ; 3,70(t,2H) ; 10,77(s,1H) ; 11,03(s,1H) ; 11,83(s,1H).
12	300 MHz	0,85(t,3H) ; 1,25(m,18H) ; 1,51(m,2H) ; 3,63(t,2H) ; 10,82(s,1H) ; 10,86(s,1H) ; 12,00(s,1H).
13	250 MHz	0,84(t,3H) ; 1,22(m,26H) ; 1,51(m,2H) ; 3,62(t,2H) ; 10,78(s,1H) ; 10,81(s,1H) ; 11,98(s,1H).
14	250 MHz	0,85(t,3H) ; 1,22(m,18H) ; 1,48(m,2H) ; 3,73(t,2H) ; 10,54(s,1H) ; 11,35(s,1H) ; 12,03(s,1H).
15	90 MHz	0,86(t,3H) ; 1,26(m,8H) ; 3,72(t,2H) ; 10,71(s,1H) ; 10,97(s,1H) ; 11,80(s,1H).
16	250 MHz	0,85(t,3H) ; 1,25(m,10H) ; 1,53(m,2H) ; 3,71(t,2H) ; 10,76(s,1H) ; 11,01(s,1H) ; 11,85(s,1H).
17	500 MHz	0,84(t,3H) ; 1,25(m,14H) ; 1,51(m,2H) ; 3,81(t,2H) ; 10,71(s,1H) ; 10,98(s,1H) ; 11,82(s,1H).

EXEMPLE 18

Dodécyl-7 [1H,3H,9H]purinetrione-2,6,8.

(formule I : Z_1 et $Z_2 = \text{CO}$; $R_1 = \text{C}_{12}\text{H}_{25}$; $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$).

5 a) On maintient 3 heures à sa température de reflux une suspension de 5,12 g d' amino-6 benzyl-1 bromo-5 pyrimidinedione-2,4, 11,1 g de dodécylamine et 100 ml de n-butanol. Le solvant est ensuite éliminé
10 sur le résidu et on isole le précipité formé. On obtient ainsi 4,2 g d' amino-6 benzyl-1 dodécylamino-5 pyrimidinedione-2,4 qui fond à 161°C.

15 b) On maintient 2 heures sous agitation, à température ambiante, 2 g du produit obtenu selon a), 1 g de K_2CO_3 sec et 1 g de chloroformiate d'éthyle dans 20 ml de diméthylformamide, avant d'introduire 200 ml de chloroforme. La phase organique est lavée avec de l'eau à pH 5-6, puis séchée et concentrée. Le
20 résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice en éluant avec un mélange $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$ (5% - v/v). On isole ainsi 1,64 g d' amino-6 benzyl-1 (N-dodécyl-N-éthoxycarbonyl) amino-5 pyrimidinedione-2,4 qui fond à 196°C.

25 c) On introduit dans un appareil à hydrogéner 100 ml d'éthanol, 6 g du produit obtenu selon b), 10 ml d'une solution aqueuse concentrée de NH_4OH et 0,3 g de palladium sur charbon à 10%. L'hydrogénation est effectuée à pression ordinaire et 50°C. Lorsque la
30 quantité théorique d'hydrogène a été consommée, on ajoute 400 ml d'éthanol vers 50°C et filtre le catalyseur vers cette température. Le solvant est éliminé jusqu'à laisser un volume résiduel de 20 ml. Le précipité apparu lors du refroidissement est isolé. On obtient ainsi 3,84 g d' amino-6 (N-dodécyl N-éthoxycar-

bonyl)-amino-5 pyrimidinedione-2,4 qui fond à plus de 250°C.

5 d) On introduit 3,5 g du produit obtenu selon c) dans 100 ml d'une solution d'éthylate de sodium, préparée avec 2,3 g de sodium, et on maintient la solution pendant 4 jours à sa température de reflux. Le solvant est alors distillé et le résidu mis en suspension dans 20 ml d'eau. La phase aqueuse est acidifiée par addition d'une solution aqueuse concentrée d'acide chlorhydrique, avant filtration du précipité formé.

Celui-ci est recristallisé dans l'acide acétique. On obtient ainsi 1,56 g de purinetrione qui fond à plus de 280°C.

15 RMN(300MHz) - δ : 0,86(t,3H); 1,27(m,18H); 1,53(m,2H); 3,78(t,2H); 10,43(s,1H); 11,28(s,2H).

EXEMPLE 19

20 Amino-6 dodécylamino-5 pyrimidinedione-2,4 (formule I : Z_1 et $Z_2 = H$; $R_1 = C_{12}H_{25}$, $R_2 = R_3 = R_4 = H$).

1 g du composé obtenu dans l'exemple 18 a) est mis en solution dans 50 ml d'éthanol. On ajoute 100 mg de Pd/C à 10% et effectue une hydrogénation par H_2 à 50°C sous pression atmosphérique, jusqu'à consommation de la quantité théorique d'hydrogène. Le catalyseur est séparé par filtration à chaud et le solvant éliminé sous pression réduite jusqu'à un volume de 15 ml d'environ. Le précipité formé est recristallisé dans l'éthanol. On isole ainsi 510 mg du produit cherché qui fond à plus de 250°C.

30 RMN(500MHz) : 0,86(t,3H); 1,27(m,18H); 1,48(m,2H); 2,62(t,2H); 3,32(m,1H); 5,67(s,2H); 9,80(s,1H); 10,09(s,1H).

EXEMPLE 20

Amino-5 octadécylamino-6 méthyl-3 pyrimidinedione-2,4
 (formule I : Z_1 et $Z_2 = H$; $R_1 = H$; $R_2 = C_{18}H_{37}$;
 $R_3 = H$; $R_4 = CH_3$)

5 a) On introduit, par fractions, 2,05 g de
 chloro-6 méthyl-3 nitro-5 pyrimidinedione-2,4 résultant de la nitration de la chloro-6 méthyl-3 pyrimidinedione-2,4 selon un procédé décrit dans Liebigs
 Ann. Chem. 677 113 (1964), dans une solution de 3 g
 10 d'octadécylamine et 1 g de triéthylamine dans 20 ml d'éthanol. La solution est maintenue 20 minutes à sa température de reflux, puis neutralisée par addition d'acide acétique. Le précipité formé est lavé à l'eau et recristallisé dans l'éthanol.

15 On isole ainsi 2,11 g d'octadécylamino-6 méthyl-3 nitro-5 pyrimidinedione-2,4 qui fond à 130°C.

b) Le produit ainsi obtenu est mis en solution dans 50 ml d'acide formique et on introduit dans le milieu par petites portions 2 g de zinc en poudre;
 20 après 1 heure de reflux on filtre à chaud et évapore les solvants du filtrat sous pression réduite. Le résidu est cristallisé avec 15 ml de méthanol. On obtient ainsi 1,8 g de formamido-5 octadécylamino-6 méthyl-3 pyrimidinedione-2,4 qui fond à 196°C.

25 c) Le formamide obtenu ci-dessus est traité par HCl dans le méthanol comme à l'exemple 1-b.

On obtient ainsi le chlorhydrate du produit recherché qui fond à 187°C.

RMN(250MHz) : 0,89(t, 3H); 1,27(m, 30H); 1,55(m, 2H);
 30 3,15(s, 3H); 3,32(m, 2H); 7,86(s, 1H); 10,40(s, 3H).

L'activité antiradicalaire de ces composés a été déterminée comme suit : on introduit, dans 970 μ l d'un mélange de méthanol et de solution aqueuse tamponnée par du TRIS (trométhamine), HCl (10 mM-pH 7,4)

20

à raison de 1 volume de méthanol pour 2 de tampon, 20
µl d'une solution de DPPH' 1mM et 10 µl d'une solution
du produit à tester dans le diméthylsulfoxyde. Le mé-
lange est maintenu 20 minutes à 20°C avant de déter-
miner la densité optique à 517 nm par rapport à un
5 mélange témoin pour lequel le produit à tester n'a pas
été introduit dans le diméthylsulfoxyde.

Le pourcentage P de piégeage du radical
libre est défini comme un rapport des densités opti-
ques D
10

$$P = \frac{D(\text{produit}) - D(\text{témoin})}{D(\text{témoin})} \times 100$$

15

La concentration efficace 50 (CE₅₀), celle
pour laquelle P = 50, est calculée sur la base des
résultats des mesures faites avec 4 concentrations
différentes dans une gamme de 10 autour de la CE₅₀.

20

Dans le tableau 5, figurent les CE₅₀ pour
des composés selon l'invention, ainsi que pour l'acide
urique et ses dérivés N-méthylés et pour le produit A.

TABLEAU 5

	PRODUIT	CE ₅₀ (μ M)	PRODUIT	CE ₅₀ (μ M)
5	acide urique	4,5	exemple 11	5,2
	acide urique CH ₃ -1	4,5	12	6,2
10	CH ₃ -3	3,2	13	4,5
	CH ₃ -7	20	14	3,2
	CH ₃ -9	5,2	15	4,5
	A	4	16	4
	exemple 1	5	17	3,4
15	2	7	18	27
	3	5,5	19	4,5
	4	6,4	20	6,2
	5	6,4		
	6	6,5		
20	7	5,6		
	8	6,5		
	9	2,7		
	10	6,5		

25 L'activité inhibitrice de la peroxydation des lipides membranaires des composés a été déterminée comme suit :

a) préparation des mitochondries

30 On prélève un coeur de boeuf immédiatement après l'abattage de l'animal et le refroidit à 4°C, température à laquelle toutes les opérations suivantes seront effectuées. Le coeur est lavé avec une solution aqueuse tampon à pH 7,4 (TRIS, HCl 10 mM, EDTA 2 mM,

KCl 20 mM, saccharose 250 mM) puis les tissus conjonctifs et les graisses sont éliminés. Le muscle est alors haché et le hachis est mis en suspension dans une solution aqueuse tampon à pH 7,4 (TRIS, HCl 10 mM, 5 saccharose 250 mM, EDTA 1 mM) à raison de 700 g de muscle pour 3 litres. Le pH de la suspension est réajusté à 7,4, régulièrement, avant d'isoler le hachis par filtration sur une gaze. Il est ensuite remis en suspension dans 3 litres du second tampon et la sus- 10 pension est broyée avant d'être centrifugée pendant 20 minutes à 1000 g, puis le surnageant est centrifugé 15 minutes à 17000 g. Le culot de centrifugation est lavé plusieurs fois par une solution aqueuse tampon de pH 7,4 (TRIS, HCl 15 mM, saccharose 250 mM) avec sépara- 15 tion par centrifugation de la solution de lavage et on prépare finalement une suspension homogène de mitochondries dans ce même tampon à 50 mg de protéines/ml qui sera conservée congelée en gouttelettes, dans l'azote liquide. Après décongélation les contrôles 20 respiratoires réalisés en mesurant les vitesses de consommation d'oxygène en présence ou non d'ADP pour les substrats succinate et glutamate/malate, sont 80% de ceux obtenus avant la congélation, plusieurs mois après la préparation des mitochondries.

25 b) Lipoperoxydation

On disperse à 4°C une fraction de mitochondries décongelées dans une solution aqueuse tamponnée de pH 7,4 (TRIS, HCl 30 mM contenant KCl 140 mM), pour obtenir une concentration en protéines de 0,37 mg/ml; 30 dans 960 µl de cette suspension, on introduit 10 µl d'une solution d'acide dihydroxyfumarique 100 mM dont le pH a été ajusté à pH 7,4 2 µl d'une solution du produit à tester en solution dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) et 30 µl d'une solution de $\text{FeSO}_4, (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1mM,

conservée à l'abri de l'oxygène et de la lumière. L'échantillon témoin contient le DMSO sans le produit à tester tandis que le blanc ne contient ni acide dihydroxyfumarique, ni fer.

5 Après un premier prélèvement de 100 µl, les échantillons sont maintenus à 37°C sous légère agitation et des prélèvements de 100 µl y sont effectués après 20 et 40 minutes.

10 Chaque prélèvement est introduit immédiatement dans 1,5 ml d'une solution d'acide trichloroacétique 13,5% (p/v) et d'acide thiobarbiturique 0,33% (p/v) dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0,85 N et les récipients sont fermés puis portés à 15 100°C pendant 15 minutes, avant d'être refroidis jusqu'à température ambiante en 5 minutes. On ajoute alors 1 ml d'une solution aqueuse d'acide trichloroacétique à 70% (p/v) avant d'effectuer la mesure spectrofluorimétrique, avec une longueur d'onde d'excitation de 515 nm et d'émission de 553 nm.

20 Une gamme étalon de malonaldéhyde bis-(diéthylacétal) dilué dans une solution aqueuse de HCl 0,1 N permet de calculer à quelle concentration d'aldéhyde correspond chaque intensité de la fluorescence i .

25 Dans les conditions expérimentales, on a déterminé

$$C \text{ (nmole)} = \frac{i - 1,89}{35,5}$$

30 et par conséquent, le pourcentage d'inhibition de la peroxydation I peut être calculé par la formule

$$I = \frac{(i - 1,89)\text{témoin} - (i - 1,89)\text{essai}}{(i - 1,89)\text{témoin} - (i - 1,89)\text{blanc}} \times 100$$

La concentration inhibant 50% du signal CI_{50} , c'est-à-dire celle pour laquelle $I = 50$, est calculée d'après les mesures effectuées avec 4 concentrations différentes du produit à tester dans une

5

gamme de 10 autour de la CI_{50} .
Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 6. L'acide urique n'inhibe pas la formation de malonaldéhyde à une concentration inférieure à 100 μM ; ses dérivés N-méthylés sont peu actifs, pour le plus

10

TABLEAU 6

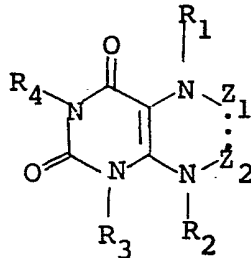
	exemple	CI_{50} (μM)	exemple	CI_{50} (μM)
15	A	0,7	11	1,25
	1	0,24	12	0,3
20	2	0,27	13	0,9
	3	0,26	14	1,6
	4	0,9	15	> 75
	5	0,3	16	28
	6	3,5	17	3,7
25	7	0,28	18	1,6
	8	0,62	19	0,57
	9	0,85	20	20
	10	25		

30

REVENDICATIONS

1. Composé de formule

5



I

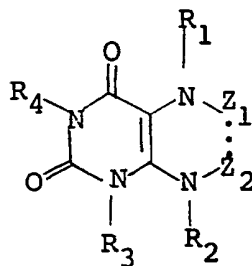
10 dans laquelle l'un des symboles R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 représente un groupe alkyle en C_6 à C_{20} et les autres représentent chacun H ou un groupe alkyle en C_1 à C_3 et Z_1 et Z_2 représentent chacun H ou représentent ensemble le groupe carbonyle ou thiocarbonyle, étant
 15 entendu que lorsque Z_1 et Z_2 représentent le groupe carbonyle et R_4 représente n-hexyle, R_1 et R_3 ne peuvent représenter simultanément CH_3 et lorsque R_1 représente le groupe n-dodécyle, l'un des R_3 ou R_4 est différent de H,
 20 et ses sels d'addition avec un acide pharmaceutiquement acceptable.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'un des R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 représente un groupe alkyle en C_{12} à C_{20} .

25 3. Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que Z_1 et Z_2 représentent chacun H.

4. Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que Z_1 et Z_2 représentent ensemble le carbonyle ou thiocarbonyle.
 30

5. Médicament contenant comme principe actif un composé de formule I



I

5

10 dans laquelle l'un des R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 représente un groupe alkyle en C_6 à C_{20} et les autres représentent H ou un groupe alkyle en C_1 à C_3 et Z_1 et Z_2 représentent H ou représentent ensemble le groupe carbonyle ou thiocarbonyle, et ses sels d'addition avec un acide pharmaceutiquement acceptable.

15 6. Médicament selon la revendication 5, caractérisé en ce que R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 représente un groupe alkyle en C_{12} à C_{20} .

7. Médicament selon l'une des revendications 5 ou 6, caractérisé en ce que Z_1 et Z_2 représentent chacun H.

20

8. Médicament selon l'une des revendications 5 ou 6, caractérisé en ce que Z_1 et Z_2 pris ensemble représentent le carbonyle ou le thiocarbonyle.

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FR 9003342
FA 441006

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	FR-A-2 232 320 (WÜLFING) * Page 1, lignes 1-25 *	1,3,5,7
X	EP-A-0 092 398 (WARNER-LAMBERT) * Page 6, ligne 31 - page 8, ligne 2 *	1,3
X	FR-A-2 531 085 (ADIR) * Page 4, lignes 8-15; formule VI *	1,3
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 84, no. 15, 12 avril 1976, page 576, résumé no. 105545u, Columbus, Ohio, US; J. ZAJACZKOWSKA: "New drugs in the group of xanthine derivatives. XXXVI. 8-substituted derivatives of 1-hexyltheobromine", & ACTA PHARM. JUGOSL. 1975, 25(4), 237-40	1,4
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 112, no. 17, 23 avril 1990, page 688, résumé no. 157937q, Columbus, Ohio, US; B.A. PRIIMENKO et al.: "Synthesis of 7-alkyl-8-thioxanthines", & UKR. KHIM. ZH. (RUSS. ED.) 1989, 55(6), 650-3	1,4
X	RECUEIL DES TRAVAUX CHIMIQUES DES PAYS-BAS, vol. 83, no. 10, octobre 1964, pages 1215-1229, La Haye, NL; H. DOLMAN et al.: "Diuretics I. 8-sulfamoyltheophylline and 7-substituted derivatives" * Pages 1224-1225, table II, exemple 1 *	1,4
A	US-A-2 781 344 (F. COMTE) * Colonne 4, lignes 14-30 *	1-3
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
06-11-1990		ENGLISH R. F.
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

EPO FORM 1503 03.82 (P0413)

DOMAINES TECHNIQUES
RECHERCHES (Int. Cl.5)

C 07 D 239/00
C 07 D 473/00